

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

第1部門第1区分

(43)公査日 平成6年(1994)3月3日

(51) Int.Cl.
C 12 N 15/49
A 61 K 39/21

識別記号 庁内整理番号
ZNA
ADY 9284-4C

51

8517-4H
8931-4B C 12 N 15/00 A
9281-4B 5/00 Z
審査請求 未請求 予復審査請求 未請求(全 22 頁) 最終頁に締く

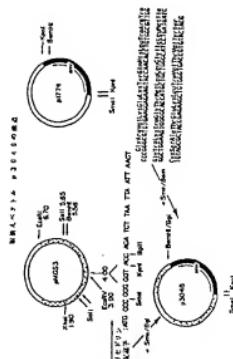
(21)出願番号	特願平5-501040
(22)出願日	平成4年(1992)6月10日
(35)翻訳文提出日	平成5年(1993)2月10日
(60)国際出願番号	PCT / US 92 / 04980
(87)国際公開番号	WO 92 / 22654
(87)国際公開日	平成4年(1992)12月23日
(31)優先権主張番号	7 1 4, 1 5 2
(32)優先日	1991年6月11日
(33)優先権主張国	米国(US)

(71)出願人 マイクロジェネシス インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 コネチカット州 06450
メリデン リサーザ パークウェイ
1000
(72)発明者 スミス ゲール ユーゲン
アメリカ合衆国 コネチカット州 06605
ギルフォード ミッチャエル ドライヴ
125
(74)代理人 司理士 石黒 雄二

(54)【難易の名称】ヒト免疫不全症候群ウイルスに対する疫苗（ワクチン）および治療方法

〔57〕【要約】 〔修正有〕

ヒト免疫不全ウイルス、および型1 (HIV-1) の包被蛋白を含んだ後天的免疫不全症候群 (エイズ) ウィクチンは、桿状ウィルスは昆蟲細胞ベクタ系においてクローン化したHIV-1包被遺伝子から生産される。この組換えHIV-1蛋白は精製され、粒子状にされ得て燐酸アミニウム補助剤で吸着される。このように補助剤に吸着された組換えHIV-1ウィルスは包被形態 (エイズウクチン) は、動物においては高度に免疫活動が示され、HIV-1ウィルス外被に結合し、体外での実験ではウィルスの感染力を中和する。上位のエイズウクチンは、HIV-1感染症に対する新体液免疫反応および細胞免疫反応を誘導するから、ウクチン療法の一形態として免疫系の健護を予防ないしは延長させる上有用である。



特表第501851(2)

特許請求の範囲

1. 細胞貫入 HIV 包被蛋白を感染する細胞に投与することを特徴とするヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

2. 前記細胞貫入 HIV 包被蛋白は、体重 1 Kg 当たり約 1 マイクログラムから 100 マイクログラムを 1 回の服用として投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

3. 前記細胞貫入 HIV 包被蛋白は、約 100 μg から約 4000 μg を 1 回の服用として投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

4. 前記細胞貫入 HIV 包被蛋白は、略 100 μg から略 12800 μg を 1 回の服用として投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

5. 少なくとも 3 回の服用を投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

6. 少なくとも 1 回の服用を投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 4 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

7. 少なくとも 1 回の服用は 0 日から 60 日までの間に投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

8. 少なくとも各回の服用は 30 日から 60 日までの日数を隔てて投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 6 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

9. HIV に特徴的細胞死、あるいは細胞死後死細胞の増加を抑止するに十分な量だけ HIV 包被蛋白を感染者に投与することを特徴とするヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

10. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から生産されることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

11. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から生産されることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

12. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から生産されることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

13. 前記細胞貫入蛋白は、略 145,000 の分子量を有していることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

14. 前記細胞貫入蛋白は、略 145,000 の分子量を有していることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

15. 前記細胞貫入蛋白は、略 145,000 の分子量を有していることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

16. 前記細胞貫入蛋白は、g p160, g p120 および g p41 のうちの少なくとも一つであることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

17. 前記細胞貫入蛋白は、g p160, g p120 および g p41 のうちの少なくとも一つであることを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

18. 前記細胞貫入蛋白は、g p160, g p120 および g p41 のうちの少なくとも一つであることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

19. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から 3046 により発育されるように育ててあることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

20. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から 3046 により発育されるように育ててあることを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

21. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から 3046 により発育されるように育ててあることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

22. 前記細胞貫入蛋白は、少なくとも略 2,000,000 の分子量を有する粒子を含めていることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

23. 前記細胞貫入蛋白は、少なくとも略 2,000,000 の分子量を有する粒子を含めていることを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

24. 前記細胞貫入蛋白は、少なくとも略 2,000,000 の分子量を有する粒子を含めていることを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

25. 前記細胞貫入蛋白は、細胞貫入と膜結合を含む複数の方法で細胞貫入 HIV 包被蛋白およびアルゴリズム剤を含む組合物を感染細胞に投与することを含めていることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

26. 前記細胞貫入蛋白は、細胞貫入と膜結合を含む組合物を感染細胞に投与することを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

27. 前記細胞貫入蛋白は、細胞貫入と膜結合を含む組合物を感染細胞に投与することを特徴とする特許請求の範囲第 5 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

28. 少なくとも略 2,000,000 の分子量を有する粒子に形成された粗染色 HIV 包被蛋白およびアルゴリズム剤を含む組合物を感染細胞に投与することを含めていることを特徴とするヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

29. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から生産されることを特徴とする特許請求の範囲第 2,8 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

30. 前記細胞貫入蛋白は、粗染色 g p160, 改良 g p120 および粗染色 g p41 から選択され、粗染色 HIV 包被蛋白は略 145,000 の分子量を有し、粗染色蛋白は津液ウイルス黒虫細胞培養系から 3046 により発育されるように育ててあることを特徴とする特許請求の範囲第 2,8 項に記載のヒト後天的

31. 前記細胞貫入蛋白は、g p160 の略 757 個の連鎖アミノ酸を導入し、g p160 の略 40 個の末端連鎖アミノ酸を実質的に除くことを特徴とする特許請求の範囲第 2,8 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

32. 前記細胞貫入蛋白は、略 10 μg から略 4000 μg を 1 回の服用として投与されることを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

33. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系から 3046 により発育されるように育ててあることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

34. 前記細胞貫入 HIV 包被蛋白は、1 回の服用当たり約 100 μg から 4000 μg の量を模倣することを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載のヒト後天的免疫不全ウイルス感染者の治療方法。

35. 前記細胞貫入蛋白は、津液ウイルス黒虫細胞培養系により生産されることを特徴とする特許請求の範囲第 1,3 項に記載のヒト HIV ウクチン粗染色。

36. 前記細胞貫入蛋白は、g p160 の略 757 個の連鎖アミノ酸を導入し、g p160 の略 40 個の末端連鎖アミノ酸を実質的に除くことを特徴とする特許請求の範囲第 3,4 項に記載のヒト HIV ウクチン粗染色。

明相書

ヒト免疫不全症ウイルスに対する抗体（ワクチン）および治療方法
本発明は、1988年2月3日出願の米国特許出願第151. 976号の一部
延長出願である（現在では特許出願第585. 266号）。そして、米国特許出
願第151. 976号は、1986年10月16日出願の米国特許出願第920.

1型ヒト免疫不全症候群ウイルス(HIV-1)は、適性(レトロ)ゲノムウイルス、免疫系統に高い致死性を持つ病原性を引き起こす。先天免疫不全症候群ウイルス(HIV-1)の宿主は通常である(ベーリンシャウス等[Berlinshaw et al.]、サインス等[Signe et al.]、サインス比[Signe et al.]、サインス比[Signe et al.]、サインス比[Signe et al.]、サインス比[Signe et al.]等)。既往のHIV-1の宿主は、サル(サル免疫不全症候群ウイルス(エボリューション等[Evolution et al.]、サインス等[Signe et al.]、サインス等[Signe et al.]等)等)である。

(1984年)
エイズ病気となっており、虚瘦（ワクシン）の状況が世界保健会の見地から最も大きな問題となっている。エイズ感染者のなりの多くは、T-リーン症候群により免疫機能が徐々に失われている。一定の免疫機能と同時に、T-リーン症候群は常にCD4+細胞を失っている。HIV-1は、ヴィルス蛋白の表面抗原によって優先的にCD4+細胞を介してHIV-1を認識し、細胞の内部に進入して増殖をし、細胞を死滅させる。有効な免疫直撃（ワクシン）は、HIV-1の細胞表面にいくつも抗体を導入してHIV-1を細胞の表面抗原に対する感染を妨げている。

産痘（ワクチン）は、免疫予防手段として従来人が原原因に感染する前に、投与されるのが一般的である。しかしながら、肺気に対する免疫療法として感染後に有効なエイズワクチンを用いることを考慮するのも一理あることである（データー、J. (Sak, J.)、ネイチャー誌、327: 473-476 (1987)）。

(Bonford et al.)、「補助剤」、動物細胞バイオチック 第2巻:235-250. カドミック・プレス社、ロンドン:1985)。

本発明は、ヒト免疫不全症候群ウイルス(HIV)に対する腹膜(ワクチン)および治療方法を提供することが目的であり、感染者および感染可燃者に対してHIV包被蛋白を投与することを構成要件としている。好みしい実施例としては、包被蛋白はアセチル化、熱処理されて、ワクチンとして使用するために推奨されるように調整される。

中西の政治 125

本問題の正解は、条件の回答と共に以下の如きである。

第1回は、*E. coli* ブラズミF1N42からH1V-1を包被遺伝子（ λ ）を分離する用いるクニカワ法を示す。表示遺伝子は、H1V-1DN と表示。包被部はクニカワ法でバウムの形を示す。ブラズミF1774における黒色部は包被されたリゴリオヌクレオチド（oligonucleotide）から構成され、ブラズミF1774の15.1%の位置にS-Sm1→K-pn1片と示された構造である。この構造がオラクレチドの記載が示されている。

第2回は、結合したブラズミヘッド（ λ 3046）を構成する用いる手順を示す。これは複数回スラストスベルバウル（ λ 3046）を構成する用いる手順である。ブラズミヘッドMGS3は、4. 0で示されるクロニシング密度のいずれかで複数回スラストスベルバウル生産された記載（説明）を示す。この位置は、Sm1→K-pn1とB1911にして構成のスラストスベルバウルである。AC-NPv多形モーフアは、4. 0の位置から「の方に向む。」の記載は、「-TAAATTAA-TAA-3」は、3'の方に向む。全ての3つの認定基序がアミド二段（特徴）のヘリックスを作り出す構造を構成するアミド二段（構造）を有する。ブラズミF1774とH1V-1を組み立てるヘリックスの記載は、真1回に示してある。ブラズミD3046は、H1V-1774HVN1-V-1を包被部の厚さを示す「1」とB1911

第3図は、*Ac 3046 gp160*のコード配列の両側に存するDNAのヌクレオ

クレオサン配列を示す。+1と+2 2 6 4との間の3 0 4 6 env DNA配列は、第4回に示す。

第4回ないし第4回は、A c 3 0 4 6 (+1+2 2 6 4との間) env DNA配列の5'端における合成オリゴクレオサンとともに示すHIV-1 env DNAのDNA配列である。内クレオサンの制限基質位置は、DNA配列の上に示され、前回のアミノ酸配列はDNA配列の下に示されている。名前には左に番号が付いている。

第5回ないし第5回は、A c 3 0 4 6からのenv遺伝子の配列を図示する。LAV-1配列は、上方に示され、A c 3 0 4 6は下方に示されている。LAV-1配列の下方の線(1)は、A c 3 0 4 6の配列を同一の端で示すこととする。D NA配列の番号は、ワインホーフマン等(Win-Holm et al.)のLAV-1に對して記載したと同一のものを用いている(细胞、40: 9-17 (1985))。

第6回は、ヒトHIV-1抗体陽性患者(上のグラフ)および、g p 160 (1 J 5 S, K L 5)あるいはp 120 (A B 5 S, C D 5 S, G H 5 S)により反応された動物からのLAV-1遺伝子(下のグラフ)についてのELISA抗体測定値を示す。このELISAはHIV-1抗体測定法で、高濃度に反応されたg p 120とg p 160蛋白に対して反応される。神経細胞を用いた細胞は、半-反応トトG、HRP反応に対して陽性となる。本テストにより陽性反応を示す血清の最高検出限界は、濃度である。

第7回は、ワクチン化した血清陽性患者についてのg p 160ワクチンが効果する先発反応を示した表である。

第8回(左およびB)は、荷物HIV包被エピトープに対して直接行われるワクチン陽性反応を示す。

第9回は、ワクチン化した血清陽性患者についてg p 160に対するワクチン陽性化陽性反応を示す。

第10回(左-C)は、ワクチン化した血清陽性患者におけるCD4細胞の増殖を示す。

第11回は、応答者および非応答者におけるCD4細胞の増殖の変化を示す。

発明の概要

構成式HIV-1 gp 160包被蛋白(“rgp 160”)、とりわけ、構成アルミニウムなどが前記蛋白を吸着されたときには、エヌクレオサンとして特に有利であることが判明している。この発明の一例では、構成式のA c 3 0 4 6に見出されるアミノ酸1-757に構成式HIV-1包被蛋白の蛋白に対するアミノ酸配列を有するc N P V実験ペクトルを用いた。また他の細胞では、昆虫細胞内に構成式HIV-1包被蛋白(および蛋白質自身)の製造に関する。とりわけ、アミノ酸配列1-757(すなわちA c 3 0 4 6)によりコードされたrgp 160蛋白を反応させる。

本発明他の細胞では、3 0 4 6蛋白および、構成アルミニウムを含めるために3 0 4 6蛋白を吸着した後、蛋白質ペクタムの遺伝子後製造から経過した蛋白質の構造および活性化することを含んでいる。

本発明は、エヌおよびHIV感染に対する予防および治療方法をも含んでいる。

発明の詳細な説明

次の例は、実用を肯定するものではない。

構成式はアミドラマーフィー カリカルニカロ多糖状フィールス(A c N P V)は、HIV包被蛋白(構成式A c 3 0 4 6)の91回目のHIV-1 gp 160コードを含んでおり、このことは既報係の文献で出典第2, 197号(既報係で特許出典第585, 260号)。既報係はペルル含む蛋白質を構成するために用いられるローリングの手順は、先の出願に開示されているし、ここにも文献として記述されている。

下記は、A c 3 0 4 6発表ペクトルを構成するために用いられる連鎖子技術の手順を構成に記載したものである。ここに使用される物質は、神経細胞や免疫細胞を含み、市販されているものである。本発明の製法および応用例も記載されている。

実質的には、rgp 160として示される他の構成物質蛋白は、考慮され、

構成式g p 120およびg p 41蛋白が含まれている。A c 3 0 4 6は、本発明による発見ペクトルの一例であり、構成蛋白質でもある。

例1

アミノ酸1-757に対するHIV-1コード配列を有する荷物フィールス組成式A c 3 0 4 6の生成

構成式ペルルストラクトルによる異常蛋白コード配列、一方でボリードリン蛋白遺伝子(Polyhedrin promoter)および上記の抑制と同時に、他方では構成フィールスのコード配列を示している。この配列においては、神経細胞の蛋白質に対する接觸点は、ボリードリン蛋白質遺伝子および不活性遺伝子と示している。蛋白コード配列が示されている。

したがって、HIV包被蛋白の配列のため、多段階導入法が利用される。導入ペクトルであるMGS 3は、下記に述べるように、AT G開始コドンを構成するためのものである。このペクトルに構成配列を導入する際では、AT G開始コドンによる生じた接觸点が異常蛋白全体においてよく接觸される状況で行われる。導入ペクトルMGS 3は、基質(pLiquin)と構成したc N P V分離から導入されたDNAとのA c 3 0 4 1-757回転クローンから構成されたものである(IVT-1)。このMGS 3は、下記の特徴的特徴を有している。

(a) 多段階導入のAT G開始コドンから上流側に4 0 0 0 bpの配列がある。

(b) 位置拘束の変形生成と導入された度数遺伝子を有し、多段階コドンに対応する位置に存在するAT G開始コドン、抑制位置Sma I、Kpn I、Bgl Iおよび活性停止コドンの片から成っている。

(c) 多段階遺伝子の最終であるKpn I抑制位置からEco R I-1クローンの末端Eco R I抑制位置に及びp 120 bpの配列がある(第2回図)。

例2

アミノ酸1-757に対するLAV-1envコード配列を有する荷物フィールス組成物の生成

第1回のNA 2として示す構成式ペクタムは、pUC 18に導入された全体のHIV-1種性フィールスの21、8 kbp切片となる。ヒトの既存の細胞

に感度してからフィールスとなることから、このクローンは、感染性とされている(アダチ等(Adachi et al.)、構成ペクタム、59: 2 8 4-2 9 1 (1986))。NA 2に含まれる完全な包被遺伝子配列は、HIVのLAV種から導入されたものである(バーレ・シノシ(Barre-Sinoussi), 1983)。

HIV-1の包被遺伝子は、分離され、下記のように記載される(第1回図)。この包被遺伝子は、NA 2から3 8 4 6 bp Eco R I/Sac I制限断片として最初は分離され、Eco R I/Sac I制限位置pUC 19にクローニングされる。この結果生じたpL 74 Fは、p 70 8として再定義される。

構成蛋白質は、その後にp 8 0 0 bp Kpn I制限断片として再度分離され、pUC 18のKpn I制限位置にクローニングされる。この結果生じたクローニングは、p 1 8 1として再定義される。

このp 1 8 1にかけKpn I制限断片は、HIV包被遺伝子の後にまに既報系分離されたものである。N-末端の1 2 1 bpに對する配列は示されていない。この示されたアミノ酸の構成は、構成ペクタム断片を含む。二重説明の必要性(glossary)の導入により重複を避けている。導入された蛋白質は、遺伝の多段階遺伝子ペクタム用いてLAV-1ノウ配列から創生される。この蛋白質は構成蛋白質を構成するために、AT G開始コドンの代わりに新たに5 m a 1制限配列(例回に導入される)AT G開始コドンは、構成フィールス導入ペクトルにより供給される。この結果生じたpL 74 Fは、p 1 7 7 4として再定義される。

第2回において、HIV-1包被の構成系は構成ペクタムをむし1 7 7 4からの制限断片は、クローニングされたMGS導入ペクトル(例:MGS 3)となるから、導入ペクトルのAT G開始コドンは、包被遺伝子のコドンとともに残るまではある。p 1 7 7 4の構成は、プラスドクタムpUC 18のSma I/Bgl Iの位置に導入されたp 1 7 7 4から導入されたSma I/Bam H I制限配列から成っている。このクローンは、p 1 6 0 の71-757に対する配列コードを有し、MGS 3ペクトルにより供給された共通コードを利用していている。

例3 構成ペクタムフィールスの創成および選択

HIV-1 env遺伝子挿入プラスミドp3046は、A c MNPV (W T-1)とともに沈殿させた試験管ルムでより、非感性状態のスザビテラルゲルペル (Suzanite agarose gel) の網目に導かれる。ついで、既往の上記の手は、細胞培養により A c MNPV 配列の断片に導入される。用挿えゲルスは、既往性状態感性形態 (occlusion negative plaque morphotype) により同定される。このような疾患は、既往形態を示すが、他の問題は起こらない。二回の追加的な既往形態が見てて行われて、最終的な用挿えゲルスを導る。用挿えゲルスDNAは、これらの問題、既往性状を有するゲルスDNAと比較することにより HIV-1 env配列への挿入位置等のためで分析される。

例4

用挿えからのHIV-1 envの発見
感染した既往形態の神経性ゲルス

既往形態内に感染したゲルスからのHIV-1 env配列の発見により、結果的には第3次既往形態が合致される。この第3次既往形態は、組成ペルトルから始されたゴムから感染されたことを知らせる。この結果、ボリドリン蛋白質分子から見出ベクトル (例: r z p 160) 上のラボホスゲル等の下段に導かれた既往ベクトルのA c T回数が対応する全てのアミノ酸を含む蛋白質が生成される。第1公報等が示すとある A c 3046は、A + g (位置) が先の LAVベクトルでは位置2のアミノ酸であるところの既往位置では Met - Pro - G - L y - a r g - V と読む。Met - Pro - G - ヨードはクローニング技術の結果により供給される。

例5

g p 160挿入子およびDNA回目のマクレオチ配列

DNA回目のg p 160挿入子のマクレオチ配列は、ゲルス形感染ベクトルA c 3046 DNAから分離された制限断片により決定される。かかる配列は下記の手順による。3. 9 kbのEcoRV-BamHI断片は、A

c 3046ゲルス形DNAの制限的取り込みにより複製される。このc 3046ゲルス形DNAは、ワッテン造りのため用いられた媒質に存在する複数のゲルスから抽出されたものである。

第2回目に示すように、3. 9 kbのEcoRV-BamHI断片は、最初のg p 160挿入子、上述の1 000 bpおよび所定DNAの下流の約1 000 bpからなる。このうち、最初のg p 160のマクレオチ配列子量は、上の1 00 bpおよび両端DNAの下流の1 000 bpを含めて決定されている。

更するに、配列決定の結果、クローニング技術を用いたように既往の構造が復元した。g p 160の配列は、ワイン・ホブソン等 (1985年) が報告した通りである。既往問題と思われる位置と既往のドンの間に存する2 253基の配列により、T5171 (ヨーロッパ) および2 253基の既往形態の構成化位置が示される。このg p 160の既往子量は、既往する分子を含めて約1 45, 000である。DNA回目の2 000基の配列的分析により、第3回、第4回および第5回に示すように、正しい挿入を示していることが分かる。

例6

g p 160のアミノ酸配列

既往化されたエドマ化 (Edman degradation) およびHPLC法を用いて、g p 160の最初の1 000基の既往部分のDNA末端部がDNA末端から予測されたそれを同一に決定される。N-末端部分のマニシニンは、g p 160の蛋白質には存在しない。このことは、A c MNPV多蛋白質がN-末端部分のメチオニン等で生成されることの如きと理屈的に矛盾する。結果、実際のg p 160 DNAおよびN-末端部分の配列は、A c MNPV 3046 DNAおよび複製されたg p 160の分析により決定されたように、下記に示される (表1)。

表1

A c MNPV 3046既往ベクトルにおけるLAV-1 env遺伝子

既往子

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Pro	Gly	Cys											

Gly
ATG CCC CGG CCT GTC AGG GAG TAC CAA CAC CTG TGG CCT TGC
GCG

これらの結果を元のLAV-1のクローンと比較すると表2が得られる。

表2

元のLAV-1のクローンにおけるLAV-1 env遺伝子

既往子

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Met	Arg	Val	Lys	Glu	Glu	Lys	Tyr	Gln	Leu	Pro	Arg	Trp	Gly

ATG AGG GTC AGG GAG TAC CTC CAC TTT TGG TGG AGG TGG GCG

例7

用挿えg p 160の複製

本発明の一侧面においては、A c 3046既往ベクトルにコード化された複数のHIV-1既往蛋白を抽出して複数の割合が用いられている。既往HIV-1既往蛋白g p 160は、A c 160由来4-5月齢の3. フルゲルス (S. frugiperda) の網目に生成される。r z p 160の複製は、下記の手順で行なわれる。

1. 細胞の洗浄 2. 染色非特異 3. ゲル通過クロマトグラフィ 4. レンチル-レクチン (Lentil Lectin : レンズ豆から得られるレクチン) 植物性クロマトグラフィ 5. 透析
本例は、2 x 10⁶ 個のA c 3046の既往形態から得られた複数のg p 160を複数の方法で記述している。

1. 細胞の洗浄

細胞培養は、5.0 mMのトリス緩衝液 (Iris buffer pH 7.5)、1 mMのEDTAおよび1%のトリントン-100を含む緩衝液により洗浄される。この緩衝液内に細胞が懸垂され通常の手法により均一化され、5.000 rpmにより20分間沈分離される。この手順を3回繰り返す。

2. 複数細胞

複数細胞は、5.0 mMのトリス緩衝液 (pH 8.0-8.5)、4%デオキシンコロート (deoxycholate) および1%ベーターメルカプトエタノール内で既往蛋白液 (suciation) により溶解される。この既往蛋白液は、通常の技術により行われる、蛋白質液法を行った後には、該蛋白の既往物の多くが粗面化で脱離、これらは5 000 rpmにより30分間心臓分離により取り除かれる。抽出されたg p 160を含む既往蛋白液は、既往状態の粗面で、光学顯微鏡による観察で確認される。

3. ゲル通過

ゲル通過の操作は、セファクリル樹脂 (Pharmacia 社) により充填されたファーマシの5.0 x 50 cmガラスカラム内に行われる。蛋白質は、最初より17 500 mlである。このカラムは既往部合部を非既往性にして使用するためには、少なくとも6リットルで、1リットルの粗面化液を500 mlと700 mlの間で複数回行なう。このガラスカラムから得られた蛋白質は、UVR-洗浄セルキモーピュレーター記録器 (Pharmacia 社) に接続され、4リットルのゲル通過液溶液により半透析される。未透析のg p 160は、ガラス柱に詰められてゲル通過液溶液により半透析される。このガラスカラムにより、この未透析の既往物が既往の大きなビーコンを形成する。最初のビーコンは既往蛋白質2, 000, 000. 000 dalを示すことを決定する小形の分析カラムによることで確認される。

このビーコンは、高分子量の既往蛋白質より低分子量蛋白質の折出により半透析である。このビーコンは、既往蛋白質から抽出されたg p 160の10%から20%が含まれる。明らかに、g p 160のこの部分は、自己複合化され、あるいは他の成分と複合して高分子量の折出物となっている。

第2の高分子量ビーコンは、g p 160の大半が含まれ、分子量が約18, 000と20, 000 dalの既往蛋白質を含んでいる。

第3のビーコンには、蛋白質中のベーターメルカプトエタノール (β-mercaptoethanol)

mol)のため、少量の蛋白が含まれているものは、大半がUV吸収である。

UV吸収を通過の結果、第2のビーカーを最初に通過したときには、ガラスカラムからの廃物物は、レンチル・レクチンカラム (Intell lectin column) に直接与えられる。其の2のビーカーがガラスカラムから消えたときには、廃物物は、レンチル・レクチン (Intell lectin) カラムから外し、そのまま持てる。

4. レンチル・レクチン (Intell lectin) (Sigma社から購入した細胞凝集性物質) レンチル・レクチン純化セラム (Intell Lectin-Sepharose 4B) は、蒸留から大量に購入される。レンチル・レクチナは、セファデックス (クロロトリグリフィ同様枝柱子) (Sephadex) で純化性クロマトグラフィにより純度98%以上に分離される。ついで、シアラ化酵素を用いてセファロース 4B (Sephadex 4B) に結合させることにより固定される。この場合は、ゲル1 mlに対して粒2 mgのレンチル・レクチン (Ligand)としてを含む。レンチル・レクチンカラムは、5.0 cm×30.0 cmのガラスカラム (Pharmacia社)で、1.25 mlのレンチル・レクチン・セファロース 4B (Intell Lectin-Sepharose 4B) ゲル (高分子量を有する酵素を低分子化するための酵素固定) を含んでいる。この固定は、完全に洗浄後で利用される。仕入れから保護された手洗により再生される。使用しない場合には、ゲルは、0.9%NaCl, 1 mM Mn Cl₂, 1 mM CaCl₂, および0.01%テオツサール (Thioglycolic acid) の液体を含んだガラスカラム内に封避される。このガラスカラムは、既述したように使用前に洗浄されて25.0 mlのレンチル・レクチン標準液により平衡化される。

未処理のp 150は、既述のようにゲル浸透柱から漏出しているときに直接ガラスカラムに被される。未処理のp 150が、このガラスカラムに接続されると、0.1%デオキシコレート (dexoycholate) を含む8.0 mlのレンチル・レクチナ標準液により洗浄される。この洗浄は、次回のp 150は、ガラスカラムに接続される。0.3%のα-メチル-マノサイドを含むレンチル・レクチナ標準液を用いることにより、付着されたグリコ蛋白を溶離させる。これは、280 nmの波長域でUVモニターを介して観察される。

5. 洗浄

A. gp 150粒子の構成成分

本発明の一側面においては、純化工程の間にgp 150の構成は、分子量2,000.000以上以上の粒から成っていることが判明した。このgp 150の蛋白は、80-90%の单量体 (分子量1,500,000) と80-90%の多量体 (分子量) の混合物として細胞から漏出された蛋白である。ゲル浸透工程により、gp 150の单量体を分離し、gp 150の純化工程により (ゲル浸透ガラスカラム) における第1のビーカー、gp 150は他の細胞と混合化、あるいは細胞と混合化して明瞭性を示している。しかししながら、ゲル浸透ガラスカラムにおける第2のビーカーでgp 150の分子量は150,000.000-300,000.000の分子量を有しているから、单量体もしくは2本鎖もっていることは支持的である。

gp 150の单量体多量体は、レンチル・レクチン洗浄の工程で、洗浄される。デオキシコレートに対して0.2%浓度でセルロース (CMC) であるところの0.5%のデオキシコレート (dexoycholate) 中のレンチルカラムから洗出されたり、あるいは0.1%のデオキシコレート (dexoycholate) 中のガラスカラムから洗出されたかによって、洗浄が凝集形態をとることが決められる。

凝集物の大きさは、单量体が分子量2,000,000以上では無い、あるいは若干大きくなる大きさを持っている。シッパラー等 (Schaller et al. 1989年) による交換的研究によれば、当細胞内に生じたgp 150は、同様の3量体であることが判明している。この研究により、HIV感染細胞がギベーリス蛋白のgp 150は、3量体であることを知らかっている。こうして、未処理のHIV gp 150に見られるのと同様に、組成がgp 150の分子量から、3.0ナノアンド5.0ナノアンドを呈しているはずである。

過度の第3回の構成は、gp 150を正しく包み込むに必要なエピトープの形成によって影響がある。非純化蛋白は、粗調、洗浄工程においてgp 150抜きの付着から取り除かれてレンチル・レクチナカラムに移行するから、gp 150の非純化性の蛋白は、分子内結合を形成し始める。度数が、CMC以上であ

る細胞の洗浄手法により、細胞およびデオキシコレート (dexoycholate) が取り除かれる。リッパルの感染細胞から得られたp 150の構成は、下記の3のようによく要される。

本発明の他の実施例では、ゲル浸透法によって、通常のイオン交換クロマトグラフィ (イオノ性および非イオノ性) が用いられる。また、手順の順序はあまり重要ではない。例えば、ゲル浸透法あるいはイオン交換クロマトグラフィがレンチル・レクチナ標準液の洗浄で用いてもよい。本発明によれば、他の洗浄法も用いられてもよい。例えば、粗調蛋白を純化した場合には、デオキシコレート (dexoycholate) の代わりに、他の洗浄剤が利用されてもよい。これらには、Tween 20 (ポリソルベート Polysorbate 20)、Tween 80、ルブロール (Lubrol) およびトリントン X-100 (triton X-100) といった非イオノ性の洗浄剤が含まれる。

表 3 純化手順の要約

純化手順	蛋白質 量(g)	gp 150 蛋白質(g)	gp 150 の割合 の合計	除去された不純物
粗調ペリット	1-2000	20	1-2	培養媒介
1.2.1 回目	250	15	8	血清アルブミン、大部分の 脂質、可溶性細胞多糖
ゲル浸透	120	12	12	脂質、蛋白質、高モル濃度の 洗浄物
レンチル ・レクチン	14	10	70	非純化蛋白
透析法	13	9	70	糖、デオキシコレート (dexoycholate)、 透析のトリス緩衝液

* 全蛋白は、280 nmの吸収により評価される。

例 8

り、状態が複合体を形成していることから、デオキシコレート (dexoycholate) は、gp 150は結合しているであろう。本発明によって複製したところ、この状態の成分が集合物になることは、この蛋白質の固有の性質であろう。gp 150の蛋白質が複合体を形成する理由は、gp 150の固有の性質によることにより、蛋白質分子上、特に細胞膜上、細胞膜上では、蛋白質は、蛋白質を大変的に失うことを (0.2ミクロンのセルロースアセテートフィルタ) により過度状態で通過される。

B. ベクタの分子量

複製されたgp 150粒子の電子顕微鏡による分析結果では、3.0-100 nMの蛋白質複合体の分子量はあることが判明している。

このベクタの蛋白質について追加的実験によれば、複製されたgp 150はゲル浸透法により分離されたのである。p 100ミクログラムのgp 150がスパローズ2、FPLCによる洗浄後R1/3のカラム (Pharmacia社) に加えられ、このカラムは、透析蛋白質分子量基準標識によると正確正されている。このカラム (column) からの蛋白出力は、実際に再活性があり、収着蛋白質は、蛋白質複合体の分子量に反比例する。このカラムにより蛋白質のgp 150が多量体形態から分離され、2×10⁴以上の分子量の球形蛋白を取り除く。このカラムにより処理される、複製されたp 150は、p 150が溶離して容易的に分離する。このため、分子量は2×10⁴ (2,000,000,000) 以上となる。

例9

A. gp 150のアルミへの吸着

免疫複合物としての蛋白質複合物の効率は、抗原の固形物への吸着の完全性に依存している。本発明の一例においては、アルミの固形物は、gp 150アルミ複合物が吸着するとしての可能性を減少させないpHであって、gp 150を効果的に吸着するようになっていることが特徴している。このアルミ複合体 (銀鏡アルミ) の形成工程で別途対象となる要素は以下の通りである。

1. 脱脂のアルミに対する吸着の濃度はpH 8.5±0.5である。しかしながら、gp 150は、pH 7.5に対してpH 6.5で効率性を失することが分かっ

ているため、アルミは、1±0、1のpH範囲で影響される。このpH範囲でものはp160のpH160がアルミに吸着されることが判明している。

2. NaClから產生するイオンは、此の値の0.15Mは足らでである。

3. 鹽酸ナトリウムに比較して塩酸ナトリウムのモル濃度は、表面活性物に吸着イオンが含まれていないことを示すものである。

4. p160は、新たに吸着されたアルミに加えられて結晶成長を阻止し、粒子の大きさを最小限にする。

以上の手順で2.00mlの「WFI」を調製して得られたp160に吸着させるので、抗原の最終濃度は下記の通り40μg/mlとなる。

B. 反応試験の測定（2.00ml全基準液化）

下記の試験は試験管で実験するのでp1601ボトルないしはピーカーを用意する。ついで、塩酸度1、塩酸2および塩酸ナトリウムに混合し、0.2ミリクロンのセロスセカーフィルターにより通過して後、滅菌済みで非活性性の1.00mlボトルに保存する。

溶媒1	AlCl ₃ 5H ₂ O	0.895グラム
	NaHAc 3H ₂ O	0.136グラム
以上のため、4.0mlの水に溶解して0.2ミリクロンフィルターにより過濾（WFI）		

溶媒2	Na ₂ PO ₄ 12H ₂ O	1.254グラム
以上のため、4.0mlの水に溶解して0.2ミリクロンフィルターにより過濾（WFI）		

溶媒3	NaOH	2.0グラム
以上のため、100mlの水に溶解して0.2ミリクロンフィルターにより過濾（WFI）		

溶媒4	トリス (Tris)	1.25グラム
以上のため、100mlの水に溶解（WFI）。		

9.0mlのWFIに1mlを加えて0.5NのHClによりpHを7.5に調節してWFIを足して100mlにする。

高压滅菌により各溶液を3分間処理する。低温運動保存。更に冷却する。

C. アルミの形成

1. 滅菌3（アルミニウム-ナトリウム-アセテート）を2.5mlの滅菌済みで使用してビペットを用いて基準液用の容器に加える。この際、滅菌1の容器に滅菌しならば、滅菌1を測定する。

2. 滅菌2（塩酸ナトリウム）を2.5mlの滅菌済みで使いビペットを用いて基準液用の容器に加える。滅菌を被りながら、折合せせる。なお、この際、滅菌1の容器に変更する。

3. 3mlの滅菌3（水酸化ナトリウム）を加え、5分間攪拌して待ける。0.5mlの試料を採取してpHを測定する。pHが7.0以下であれば、さらに0.5mlの水酸化ナトリウムを加えて、さらに5分間攪拌を続け、再び試料のpHを測定する。この操作をpH7.0と7.5の間になるまで繰り返す。

4. 基準液用の容器（滅菌1+滅菌2+滅菌3）に加えらるる各全重量を決定し、滅菌済みのWFIを足して100mlにする。

5. 1.0Mトリス pH 7.5の1.00ml内の純化g p160を8.000マイクログラムで直接測定用の容器に加える。

6. 2分間攪拌を続け、ついで基準クチンを滅菌済み滅菌内に配合する。

例10

アルミ吸着g p160の免疫能力（特異抗体反応）

判定された抗原（ワクチン）の免疫性を決定する一般的約法は、一定量の抗原を被覆された一群のマウスに対する特異的な免疫反応を測定することである。抗原から4週間後には、オキシマウスの血清により、特異の抗原に対する抗体の抗体レベルをE.L.I.S.A.といった標準試験により測定する。ここに判定の抗原とは、通常の動物性免疫反応の用いる抗原である。また、E.L.I.S.A.は、enzyme linked immunosorbent assay（酵素結合免疫吸着試験）の略である。

純化されたg p160の本ズイに対する免疫性については、補助剤なしでH6.0およびpH 7.5の場合、既に上記のようにアルミ吸着の場合ならばにプロトント（ Freund）の完全補助剤を混合させた場合に分け、下記（表4）のように要約される。

の実験が行われた。

先づ当面ある毎日（0日）には、10匹からなるネズミ群には、0.5μg、1.0μgおよび5.0μgのg p160の各濃度、E.L.I.S.A.吸着g p160の各濃度ならびに、プロトントの完全補助剤（C.F.A.）処置g p160の各段階等がされた。2.8日後過済には、ネズミは放血でE.L.I.S.A.（測定：1:10）を用いてp160に対する抗体の存在を検査された。

2.8日目に検査された血清から結果を以下に示す表5に要約されている。全てのネズミにおいて、50%以上の血清が検出された見られた。すべての投与において、血清濃度の数および平均吸着量（E.L.I.S.A.測定：1:10）はD₅₀（%）の数は、アルミ吸着g p160が0.5μgでp160のみで免疫化されたネズミよりも大きかった。

この結果は、アルミ補助剤が大量g p160抗原の免疫能力を向上させることを示している。

表 5 注入後2.8日検査

投与量	5μg	投与量1.0μg	投与量5.0μg	平均値		
				P/I*	P/I	OD
g p160	9/10	.407	7/10	.699	7/10	.439
g p160(also)	9/10	.347	8/10	.797	10/10	1.347
g p160(C.F.A.)	10/10	1.133	10/10	1.987	10/10	1.317

*: Ymaxの10¹の0.5μg、1.0μg、5.0μgの投与量で免疫化2.8日後過済での全群（N）に対する吸着率（P）の比。

†: 1.0Mの濃度過剰でのg p160に対するスパンナーのE.L.I.S.A.測定により判定して、血清吸着されたネズミの平均吸着（OD₄₅₀）

例12

中性化反応

H1V-1中性化試験は、剝離した抗体が、被離したヒトのリンパ細胞にH1V-1ウイルスが感染するのを阻止するかどうかを決定するのに用いる一般的な手法である。g p160で免疫化した動物からの免疫血清がH1V-1中性化

特表手6-501851(8)

試験中に試験され、その結果が下記の通りに要約されている。

表 6

動物	分類	免疫原／被験物	マイクロラム ^a	中性化濃度 ^b
リーサス	GSS	gp120/HIV	15/8/8	1:80-1:160
リーサス	RSS	gp120/HIV	15/8/8	1:80-1:160
リーサス	LSS	gp120/HIV	16/8/8	>1:80
ネズミ	Pool 3	gp120/Freud ^c	25/25/25	1:40-1:80
ネズミ	Pool 8	gp120/Freud ^c	1/1/1	1:40-1:80
モルモット	純化gpG	gp160/Freud ^c	10/10/10	1:20
(guinea pig)				

^a: 1回目、第2回目および第3回目に接種したgp160およびgp120のマイクロラムを示す。

^b: 非免疫動物の血清に希釈されたgp160に対する中性化活性を示す。50%免疫動物の血清に希釈されたgp160が50%だけ免疫活性を示す濃度を50%中性化濃度と示す。

モルモット(guinea pig)、死やリーサス鼠、アルあるいはワニoint(Freud)純化物を用いてgp160により免疫された。一般にこれらの動物に対する免疫活性は、HIV-1包膜蛋白に対する直接的な免疫活性を示す。

例13

チキンシラーに対する免疫活性

漢子田に見て、チキンシラーは人間に最も似ている近縁であり、今のところではHIV-1と最も近い動物である。

3匹のチキンシラーにおける安全性／免疫性の実験では、二匹のチキンシラーがアルテクシマチックのgp160の40 μgおよび80 μgにより免疫化された。これらは、4週間には、gp160の40 μgおよび80 μgが確実免疫として示された。残りの対照用チキンシラーには、1 mlの食塗液を投与した。血清試料は、通常に各チキンシラーから分離し、gp160およびV-1グイルス表面に接する抗体を調べた。この結果には、三の免疫試験、すなはち純化gp160に対するマイクロジェネシス社(MicroGenesys, Inc.)により開

発されたELISA試験、ウエスタンプロット分析試験(Western blot analysis)および市販のHIV-1 ELISA試験をそれぞれ用いた。これらの分析結果を下記に示す。

A. ELISA (マグサーチ HIV 1:60 (WGSearch HIV 1:60))

ELISA試験は、ELISA試験およびマグサーチ HIV 1:60は、gp160に対する免疫活性剤で、これについて、本出版物とともに出版権利中であり、同一篇を元にした特許出願第320,197号に記載されている(現在では特許出願585,266号)。なお、マグサーチは、米国、コネチカット州、メリーランド州に所持するマイクロジェネシス社の登録商標である。

免疫活性剤は、最初の免疫活性の1週間に示された血清試料は、1:100-1:100,000に稀釈され、ついで点検(スポット)あたり1.0 μgの純化gp160を含むニトロセロース片により加熱した。この場合の純化試料は、山手のセントラルガラスファーティング社で提出されよう。反応gp160抗体に反応して斑点と示されたところの値を高い測定値である。

対照用動物であるチキンシラー、および免疫化された免疫剤のチキンシラーの血清は、活性があった。80 μgを投与されたチキンシラーは、2週間目1:100の稀釈で陽性であり、40 μgを投与されたチキンシラーは、4週間目1:100の稀釈で陽性であった。gp160に対する反応の点検は、4週間目まで続けられ、この時点での純化試料濃度は、それぞれ1:100,000および1:2,000,000になつた。双方のチキンシラーに於ける抗体活性は、6-11週間にかけて確実に測定した。

この群の結果は、人間のB細胞疾患^dに対するウクシング濃度したチキンシラーと共に共存して示される抗体反応と量的にも量的にも似合っている。

B. 市販のELISA試験

ヴァクシシン(VaxSyn)により免疫化されたチキンシラーの血清からのウエスタンプロット分析、ならびにマグサーチ HIV 1:60 ELISA (WGSearch HIV 1:60 ELISA) から明らかなように、チキンシラーは血清純化されたgp160に対して抗体を有するようになつた。なお、ヴァクシシン(VaxSyn)

とは、ここに記載するエイズワクチンに対するマイクロジェネシス社の登録商標である。未だモルモットの免疫蛋白を認めたるHIV-1抗体がチキンシラーに生成されているかどうかを確認するために、免疫活性および違いなしHIV-1濃度試験は、この試験では、ラントンのシートル所在のマイクロジェネシス社の特許品である市販のELISA試験およびHIV-1 gp140試験により行われた。80 μgのgp160を投与されたチキンシラーは、2週間目で1:10の免疫活性を有しており、以後6週目まで抗原レベルが維持された。40 μgのgp160を投与されたチキンシラーは、6週間目で1:100の免疫活性を有하였다。

例14

gp120とgp41との間の抗体の分布

ワクチン免疫化されたgp160に対する免疫活性が、gp120よりもgp41全くはこれまで反対にも示されたかどうかを確認することは意義深いことである。これら三種の組合せは蛋白質に対して多様な免疫的手法を用いることにより、HIV-1免疫蛋白の様々な様式に対して免疫活性を示す免疫活性化が行われた。この免疫的手法としては、致死性免疫吸出法(RIP)、免疫活性化(IDE)、ウエスタンプロット(WB)および量的ELISA法などを用いている。

第6回は、異なる三種の組合せ抗原に対する免疫活性を要約するものである。異なる三種の組合せ抗原とは、[ART]・[TAB] (1)・gp120-ワニ^e (分子の二端部のからは140 kDaのアミノ酸で構成している、さいく形組成とHIV-1 gp120) : [ART]・[TAB] (2) (組成とHIV-1 gp120の全部組成に従る) : [ART]・[TAB] (3) gp160をいう。

HIV-1抗体陽性の5名のヒトの血清、ならびに上記された3種のヒトの血清は、gp160に対しては高度に反応するが、gp120に対しては僅かであり、さいく形gp120に対しては抗体がほとんどない、あるいは甚少であった。さいく形gp120は、HIV-1の外被蛋白の90%以上を占め、保護に対する決定因子を含んでいいうである。ヒトのエイズ陽性血清中の免疫

蛋白質群に対してはほとんど抗体を持っていないという所見は、ヴィールス表面に対する免疫活性が十分保護されないこゆ、通常の実験では、ヒトの被験血清が低い中性化活性を示さないことを示している。

これに対して、gp160あるいは、さいく形gp120により免疫化したチキンシラーでは、さいく形gp120のHIV-1粗抗体群に強く反応する抗体を有する。ヴィールス表面抗体は粗抗体群の分布の相違、ならびにに見られる比較的高い活性は、他の血清が高い活性化を有していることを説明している。

ヒトの血清および免疫リーザス蛋白液におけるこれら三種の組合せ抗原の免疫活性の実験的評価は、第7回で示されている。gp160により免疫化した動物の血清、試験した全ての量の濃度は、さいく形gp120粗抗体群 (gp120-デルタ) に対して高い免疫活性を有していた。

この結果により、粗抗体gp160は、リーザス蛋白液で自然感染中に生じるこの多形免疫反応は実質的免疫活性を有することが明確化した。これらは、免疫化した多くのチキンシラーがgp160-160とgp120-デルタ粗抗体群に高い活性を示す。これらは、免疫化中にHIV-1の血清中に見られないものである。これらの新たなエビデンスは、HIV-1に対する免疫によって重要であり、HIV-1免疫に対する予防および効率上、粗抗体gp160の重要な特徴となる。

例15

免疫的ないわきチキン投与

3名のHIV-1陽性患者に対する免疫試験が行われ、HIV感染者個々に對してワクシニンしたHIV-1 gp160 (既述したように、純化ワニス系により生成された) のワクチンの効果が決定された。

粗抗体gp160によるワクチンにより、3名のHIV-1陽性患者のうち19名の6%が、gp160 H1:60と特異的血清、細胞活性試験において陽性の傾向があった。6%分のワクチン投与を受けた15名の患者のうち11名(93%)が、全くgp160群に高い増加を示した。したがって、粗抗体HIVワクチン(すなわち、rgp41、rgp120、rgp160およびこれらとの組合せ)は、HIV感染者患者を治療する方策上で、効果的に投与されたと

いえよう。

本発明の実施例は、HIV蛋白の有効量は、下記に示す如きの技術に基づいて定められる。一般的に、このような有効量は、感染症の体質(性)あたり1μgから100μgの範囲にある。蛋白のための投与回数についても、既存の方法で規定されよう。好ましくは、本発明の分野における通常の知識を有する者にとってよく知られているように、皮下投与、皮内投与、すなはち静脈投与、腹膜内投与、筋肉投与あるいは皮下投与などにより行われる。

A. 志願者の選択

HIV感染者のうち30名の志願者は薬事によるものだった。HIV未感染期の治療での症候性志願者は、ウォルターリード(Walter Reed)施設あるいは段階2と定義されるが、これらの者は、至極のもの有資格者であつた。ウォルターリード(Walter Reed)段階1あるいは段階2とは、リンケド(Lyphadenopathy)が生じても生じないでも、CD4細胞の数が3ヶ月経過以上で4,000を下回らないもの(「グレード1」と「グレード2」)。段階1あるいは段階2では、ニーハイグランド・ジャーナル(「Journal of the American Medical Association」)、314: 1311-1320(1986)。追加的な志願者基準は、18歳から50歳までの成人に限り、正常な頭部骨髄検定、末梢血の検査、試験初12ヶ月間にわたりアルコールおよび薬物を常習者でないことであった。全者を初回投与後おおむね10日以内に、2ヶ月の基本的評価を受けた。試験中に対過性バイオチン(anti-retroviral)薬あるいは他の対過性の薬剤を投与されたわけではなかった。

30名の志願者のうち26名は男子で、4名は女子であった。このうち4名は白人(コカシアン)、13名が黒人で名前がスペイン語であった。平均年齢は、29歳であった(18歳から49歳の年齢範囲)。志願者たるうち8名は、ウォルターリード(Walter Reed)段階1であり、他の2名はウォルターリード段階2にあった。CD4数の基本的平均値は、6,680であった(3,880から16,390の範囲)。最初診断から研究登録となるまでにかかった平均期間は、2.4ヶ月であった(3ヶ月から4.9ヶ月の範囲)。

B. ワクチンの製造および免疫化試験

既に説明したように、試験用ワクチンは、株性ヴィルス免疫接種蛋白とし

てg p160から得た非感染サブユニットと蛋白由来でない。免疫系蛋白は、純化した蛋白から製造され、生物学的に純化され、最終的なウクチル熱的ため純化アルミニウムに吸着された。

g p160の三分の投与量が用いられた。すなはち、ミリットルあたり40μgであり、ミリットルあたり160μgであり、ミリットルあたり32μgであり、40μgの投与ではミリットルあたり320μgの2倍が用いられた。

30名の志願者は5人づつ6群に分かれた。計画と計画Bとの二つの免疫化計画が実施された。計画Aでは、ワクチン投与日が、30および120日で分かれた。計画Bでは、ワクチン投与日が、30、60、120、150および180日で分かれた。各免疫化群(「あるいは」B)内に、下記の表に示すように、異なる回数のワクチン投与されたのは三群であつた。全てのワクチンは、異なる回数のワクチン投与されたのは三群であつた。全てのワクチンは、異なる回数のワクチン投与されたのは三群であつた。実験実施期間は1ヶ月であつた。最初の2ヶ月は、基本評価であり、次の8ヶ月は最初の投与からの補足的評価である。

表 7 免疫化計画

g p160の投与量(μg)

投与日 0 30 60 120 150 180

計画A

第1群	40	40	40			
第3群	160	160	160			
第5群	640	640	640			

計画B

第2群	40	40	40	150	150	150
第4群	160	160	160	640	640	640
第6群	640	640	640	640	640	640

C. 安全性および有効性についての評価

各志願者には投与後の第0日、第1日、第2日、第3日、第15日および第30日にそれぞれ面会して相談した。これらの各志願者に対するは、熱感の有無、寒気感、むかつき感、吐き気、頭痛感(頭痛の有無)、筋肉痛(筋肉の痛み)、不快感、じんましん(皮膚の一過性紅斑)、皮膚炎、あるいは頭痛について聞かれた。ワクチン注入による痛みと皮膚に付いて頭痛の感覚を評価する試験は、紅斑、腫れ、かゆみ、痛み、過敏感、皮膚炎、皮膚炎、リンパ節の局所化、注入部位の過敏化および注入部位の皮膚に皮膚炎によって行われた。月經の到達、頭痛の出現、頭痛の変化、頭痛および皮膚炎についての評価が行われた。

体外での免疫反応が、T細胞-表皮型(「リンケド」)、CD4、およびCD8の表現型に、より評価された(「リクラン等(Reklan et al.)」、深部免疫学5: 825-95、1989; ピルス等(Birrell et al.)」、浅部免疫学全般解説群: 1-188-196、1991)。有効分群(「アリカマザイボウおよびコンカナバペン(Concanavalin A)」)チャクシウ豆から生産された有効分群(レクシコン)に対するT細胞の活性度が、T細胞-表皮型(「リンケド」)、およびCD8の表現型に、より評価された(「上記のピルス等」)。表皮抗原(深部免疫、深部免疫トキソイド、カンジダ、アルビカシス酵素およびトリコフィント(trichophyton)に対する過敏性)は皮膚試験(皮膚テスト)により、人体内の細胞免疫活性が評価された。

深部免疫検査用(「PBMNC」)および以下に示す約束的なグリース結果については、ブルケ等(Burke et al.)が既往の免疫不全症候群の3: 1159-1167、1991で記載された方法で評価された。DNAポリメラーゼ連鎖反応(「ワグス(Wages et al.)」、医学的バイオラボルト3: 58-63、1991)および直線測定(24孔ペルル)によるHIV-1ペルルの量の測定により評価された。

系統的な検査の結果は見出されなかつたが、所内での既往活性化は実験対象者の8.7%に見られた(ワクチン投与群の13名)。既往的な既往活性化は、細胞免疫、既往感染、既往歴で一度以上皮膚形成があつた。既往的な既往活性化はほとんどと知られなかつた。被験者のうち既往活性化を示さない者はいなかつた。

差異は生じなかつた。

体外での有効分群および抗原特異性強度测定、ならびに人体での遲延形皮膚過敏テスト(皮膚、もしくは皮膚C4細胞の斑下促進による計測)では、免疫系の影響の度合いについては、知見されなかつた。基本平均CD4細胞数は、ワクチン反応者では7,156個でワクチン無応答者では6,057個であった。平均CD4細胞数は、実験日から180日、240日では、ワクチン反応者およびワクチン非反応者で、それぞれ7,145、5,612個であった。240日の実験中には、平均CD4細胞数の測定的変化は、ワクチン反応者ではマイナス2%であり、ワクチン無応答者では7.3%の減少を見た(第11回回観)。ワクチンにより既発生するHIV既往性は、異常の生理において被験者にCD4細胞の増殖的活性減少が見られる結果と被験していなかつた。

ワクチン接種の前後、被験者のうち11ワクチンワクチン接種およびワクチン非接種の確率を評価するにあたっては、体外のワクチン活性は、直線的な定量化、PBMNC-ワクチン活性、PBMNC-DNAポリメラーゼ連鎖反応および24時間の血清ペルル測定することにより行われた。このワクチン活性およびDNAポリメラーゼ連鎖反応実験では、実験中変化は経験されなかつた。おまけ2回接種は被験者から検出されなかつた。

D. 免疫の評価

結果による免疫活性化(「p gp160、p 65、p 24ならびにHIV-1蛋白の免疫活性化の全免疫活性化」)の双方をもいて、全HIV蛋白に対する抗体を測定した。トクビン等(Toobin et al.)によりアントラカルカチーメイセスリソヌア USA 76: 4350-4354(1979)に記載されているように、ドット・ブロット(dot blot)およびエクステン・ブロット(「Western blot」)を用いた。

特異的免疫ビーポーティー活性が測定された(第1回回観)。

第7回には、エピトープ88(「p gp120中のアミノ酸88-98」)および48C(「p gp120中のアミノ酸448-514」)が選び出された。これに、g p 120の既往活性に対する抗体が初期のHIV既往と相関があると報告されているためである。

エピトープ106 (gp120中のアリ¹/アリ106-121)、241 (gp120中のアリ¹/アリ241-272)、254 (gp120中のアリ¹/アリ254-272)、300 (gp120中のアリ¹/アリ300-340)、308 (gp120中のアリ¹/アリ308-322)、422 (gp120中のアリ¹/アリ422-454) および735 (gp120中のアリ¹/アリ735-752) が選出された。これは、抗体の種類的変異性から選ばれたものである。エピトープ106および735はCD4結合に特異的である。エピトープ41、254および735は、群-特異的中性化に関与し、エピトープ300および308は、群-特異的中性化に関与している。

エピトープ582 (アリ¹/アリ582-602) は、対照用として選出された。これは、HIVの自発感染において免疫反応性に關わっている。研究対象の追跡的エピトープには、43 (アリ¹/アリ1-128) および342 (アリ¹/アリ342-405) を含んでいる。

第7回に示すのは、被験者に付与印字印は、HIV包被探査免疫反応における変化を記述したのである。(+)を付した被験者は、第1の抗体反応であり、(+)を付した被験者は、第2の抗体反応である。また、(+)の印字印は、免疫化後の特異エピトープに対する抗体活性を示すものである。(+)の印字印は、免疫化前の特異エピトープに対する抗体活性を示すものである。この場合、変化ははるかに大きい。(+)付の印字印は、免疫化後にgp160に対する初期的反応を示し、(+)は「高い背景度(High background)」(J:抑制不全)を示し、ndは「不発生(not done)」を示す。

中性化活性は、アリ¹ハイチャーチー² (333:469-470、1988) に記載のように、多量蛋白質抑制試験において三重の蛋白質分離法 (HIV-1:1B、R5およびM5) に用いて測定された。HIV包被探査印字は、gp160、p24および被験者グリルス免疫反応蛋白 (上記のビルクス等による方法) を用いて既報のリバン³は理学試験により測定した。

E. ウツキン反応とウツキン既反応
HIV包被真エピトープに対する既反応および未反応の双方の再生選択

った。どの被験者にも、非被験HIV白斑に対する抗体の変化は見られなかった。計画の6回投与の場合のように、15名の被験者のうち14名 (93%)においては、gp160に対する抗体増殖は見られなかった。これに対して、計画の3回投与の場合では、15名の被験者のうち7名 (47%) だが、gp160に対する抗体増殖を示した。(+)は8、6例、フィッシャーの二尾確率テストによる) (第7回表)。

第8回に示すように、ウツキン接種前に付与したウツキン接種後のgp160と真エピトープの発生率は、下記の通りである。エピトープ1-9では27-70%ペーセント、エピトープ8-8では28-52%ペーセント、エピトープ1-06では45-87ペーセント、エピトープ2-14では0-14%ペーセント、エピトープ2-54では0-1-3%ペーセント、エピトープ3-00では47-77%ペーセント、エピトープ3-08では2-69%ペーセント、エピトープ3-42では0-27%ペーセント、エピトープ4-22では3-10%ペーセント、エピトープ4-48では7-3-87%ペーセント、エピトープ1-35では17-33%ペーセントであった。ウツキンにより選ばれた抗原gp160は252 (第7回) を除く全ての真エピトープに見られた。エピトープ2-41、5-24および13-42に対する抗体 (血清反応) は12回の場合はだけに見出された。

二次的既反応は、次のエピトープについて検出された。すなはち、88、106、300、446および82である。エピトープ582に対する抗体発生率は、ウツキン接種後では100%であったが、被験者1 (33) のみが二次的既反応を示した。

抗体⁴に対するウツキン接種前HIV抗体の様様は、第7回に示すように多くである。少くとも一つのエピトープに対する既反応⁵ (血清反応) は、12回の被験者に生じた。この内既反応については、計画内では15名のうち5-14名であり、計画外では15名のうち8名であった (P = 0.05、フィッシャーの二尾確率テストによる)。計画外での被験者においては、血清反応を生じた者は、既反応ではエピトープに対する抗体をもっていなかった11名のうち5名 (14%) だけであった。計画外の被験者においては、血清反応を生じた者は12名のうち6名 (47%) だけであった (P < 0.0001、フィッシャー

の確率が一連のウツキン接種と関連があるときには、被験者はウツキン反応者の間に分類された (第7回表)。ウツキンによる既反応は、gp160既反応エピトープに対する抗体反応、あるいは既反応エピトープに対する第2の後代既反応として定義される。ウツキンによる既反応された既反応活性は、gp160に対する、新たな再生反応、ウツキン接種後既反応の反応の進展として定義される。ウツキン反応者に対するこの反応は、本試験 (英: 被験後既反応の有用性に関する群研究) の科学的目標の見地から、含められ制限である。体液的反応も細胞的反応も示さない被験者、あるいは既往の反応のみ、細胞増殖の反応のみを示さない被験者はウツキン既反応者として分類される。

F. ウツキンにより既反応された既反応活性

HIV包被するように、被験者30名のうち19名 (63%) は、gp160特異的活性および既反応活性の双方を示した。これらの被験者19名は、ウツキン反応者として分類された。11名のウツキン既反応者のうち4名は、体液的反応のみか細胞増殖的反応のみを示さなかった。ウツキン接種された既反応活性はなかった7名の全員については、3回のウツキン接種とし受けた者であった (群研究)。HIVボリクリーゼ (p66)、醜毒 (p24) 長毛子細胞、あるいは非HIV対照抗原の被験群に対する抗体結合性に関する変化は検出されなかった。いずれの被験者にも、薄層ゲルスクリューピング試験蛋白に対する抗体の発生は見られなかった。

包被抗原 (gp160) の增加は、ギールス全脂質のHIV-MNを用いたウエスター、プロット法により被験者の13名に検出された。この変化は、免疫化群に限っており、計画内では、15名中の3名の被験者 (20%)、計画外では15名中の10名の被験者 (67%) であった。計画内では、包被蛋白に対する抗体の増殖をもたらした (P = 0.05、フィッシャーの二尾確率検定テストによる)。3名全員は、特異抗体エピトープに対する血清反応を示した。

翻って、被験者のうち10名は、いかなる異常包被エピトープに対しても血清反応もせずに、ウエスター、プロット法によっても包被抗体に対する抗体増殖を示さなかった。特異抗体エピトープに対して血清反応を示した。

翻って、被験者のうち10名は、いかなる異常包被エピトープに対しても血清反応もせずに、ウエスター、プロット法によっても包被抗体に対する抗体増殖を示さなかった。

特異抗体エピトープに対して血清反応を生じた7名の被験者は、ウエスター、プロット法ではギールス包被抗体全体の変化は生じなか

った。被験者10名は、計画内では10名 (60%) に生じたが、計画外では10名 (13%) に生じたものであった (P = 0.02、フィッシャーの二尾確率テストによる)。

三重の異なる抗体 (HIV-1:1B、MNおよびR5) に対する血清中性化活性は、ウツキン接種後0日、9日および15日目の7名の被験者に基づいて測定された。5名のウツキン既反応者のうち4名は、あるいは上の細胞物質に対して強い中性化活性を示した。このウツキン反応活性は、ウツキン既反応者に比べて多量蛋白質を強烈抑制する活性があることが知見された。

G. ウツキンにより既反応された細胞反応

既反応活性に対する変化は、ウルコクソン⁶の確率検定試験 (Wilcoxon rank sum test) を用いて平行ウツキン接種前シリバ⁷は理学試験 (基本確率S1) と平行ウツキン接種後シリバ⁷は理学試験 (S1') の比較に基づいている。

被験者のうち5名のうち2名 (70%) は、gp160既反応後に対して新たなT細胞活性が生じていた (第7回表)。

第9回は、典型的ウツキン反応者における変化は、ウルコクソン⁶の確率検定試験により既反応蛋白に対する増殖活性を示す。被験者全員において、gp160にによる増殖は促進され、平行ウツキン接種後シリバ⁷は理学試験 (基本確率S1) のからS1'の0%まで計上されていた (T細胞の既反応活性において4種の平均を算出)。これに対して、HIV-p24あるいは対照群はギールス蛋白に対する増殖反応について変化は見られなかった。

被験者全員、ウツキン既反応により既反応が分類された被験者、ならびに免疫化計画により既反応が分類された被験者において、ウツキンに誘導される平均S1'の変化は、それぞれS1の0%に示されている。

HIV-1既反応に対する既反応活性は、ウツキン反応者とウツキン既反応者では有効差があった (0.01、ウルコクソン法、二尾確率テスト)。計画B (6回投与)において既反応されるgp160に対する増殖の反応は、計画A (3回投与) において既反応されるgp160に対する増殖の反応よりも大きかった (0.1、ウルコクソン法、二尾確率法)。

I. 21名の被験者のうち19名は、gp160に対して増殖の反応を生じ、さら

特表6-501851 (11)

に体液的反応をも示した(ワクチン反応者)。g p 150に対する最高平均回り倍数群(1.S.I.)は、被験者全員において見られ、50.1を記録した。しかしながら、各ワクチン反応者の反応においては、7次回目以上にS.I.の頂上値が3から17.1の範囲に亘る如く様々であり、g p 150に対する群的反応のワクチンによる大きさや持続が一過性の関係にあるのである(表9参照)。

H. 結果についての総括

本実験では、其の大きさに限りがあつても拘らず、数種の要素はワクチンの免疫能に関係があつた。群別Aでは被験者の15名中6名(40%)に対して群別Bでは被験者の15名中13名(87%)がワクチン反応者であった(¶ 0.02 フィッシャー法、二尾確率テスト)。リッターあたり6.0よりも多く平均値本群のCD4細胞に対する被験者15名のうち11名(81%)は、ワクチン反応者であった。これに対して、リッターあたり6.0以下の平均値のCD4細胞を有する被験者は4名で、そのうち5名(43%)がワクチン反応者であった(¶ 0.07 フィッシャー法、二尾確率テスト)。群Cに実験したように、リッターあたり6.0以下の平均値のCD4細胞に対する被験者5名中4名(80%)がワクチン反応者であるのに対して、群別Cにおいては被験者5名のうち5名(100%)がワクチン反応者であるのに対して、群別Dにおいては被験者5名のうち5名(100%)がワクチン反応者にすぎなかった(¶ 0.03 フィッシャー法、二尾確率テスト)。(表9参照)。

表 8

基本群CD4に基づく¶ 150 ワクチン免疫反応および免疫化計画		
CD4 数	H	反応者(%)
群別 A		
≥600	7	5 (71%)
500-600	5	1 (20%)
≤500	3	0 (0%)
合計	15	6 (40%)
		9 (60%)

を与えるであろう。

血中性T細胞についての体内の生産率は現在では未知であるが、5名のワクチン反応者の4名について、弱いのエピトープ群(¶ 11B, R, F, M)に対する強い中性化活性を認めたのは、自然免疫の先駆化が抗体の種類化免疫を保護することを示唆するだろう。臨牓上のワクチンは、弱いのエピトープ群に対して血清中性化活性を増加させ、弱い群に特異的な中性化エピトープを明確にする上で役立つ可能性がある。

HIV型免疫に対する増殖的反応は、自然のHIV感染ではほとんど起こらない。しかししながら、g p 150に由来する増殖化した細胞では、特異的T-細胞増殖反応が起こること、21名の被験者(77パーセント)において見受けられた。このような結果が生ずることの理由については明かでない。一方の可能性としては、ワクチンに特異的なエピトープに対して新たな増殖的反応が起こることとが想定される(ワクチン製造法の方法、あるいは体液的免疫の代替の結果として)。しかし、増殖活性を示す細胞は、細胞の増殖率やCD4細胞の減少率により、とくにワクチン反応者として分類され、並びに細胞の質では有効に影響されて有効の差を見た。ワクチン反応者に対する平均CD4細胞数の変化は、-0.2%で、ワクチン無反応者では-7.3%であった。これら実験は、感染免疫反応の活性化はCD4細胞数の減少には関係せず、体内のHIV生産量に関係していることを示唆している。

本研究でのワクチン被験者の結果は、相応する年齢、人種群および基本CD4細胞数における51.0%の感染、不動のヒトのデータベースに比較された。この比較群において平均CD4細胞数が8.7%減少することは、群別Aに組み入れられた被験者では7.2%の減少に相当し、群別Bに組み入れられた被験者では0.6%の減少に相当する。これらの結果から、施設よりHIV型免疫による感染免疫ワクチンは実験的であり、さるには当該ワクチンの疾患予防的使用に関しては有望であることを示していることが分かる。

HIV型免疫におけるワクチン反応性を記載する要因については、これらは明らかでないことがある。初期免疫のHIV型免疫者であっても、相当の割合でHIV型免疫に対するワクチンには過度に反応する。この高い反応性は、初期のHIV型免疫において抗原不純と同一の細胞を用いて実験している。ワクチン免疫反応性は、基本CD4細胞数に依存して起こり、このことはトキソトリートメントはワクチン免疫の重要な決定因子であるとの提唱と対照している。しかしながら、HIV型免疫に対するワクチン免疫群とHIV型免疫群との間には、ワクチン免疫群に影響を及ぼした。群別A(6回回数)の場合、優秀であった。CD4細胞数が少ない場合には被験者に免疫反応性が低下するが、この低下はワクチン投与回数を上げることによる改善の可能性があった。このことは、さらにはワクチン投与回数、更生率、減耗割合あるいは施設の改善傾向によりヒトの免疫性が改善されることを示唆している。

群別B			
≥600	9	8 (89%)	1 (11%)
500-600	2	2 (100%)	0 (0%)
≤500	4	3 (75%)	1 (25%)
合計	15	13 (87%)	2 (13%)

全合計	30	19 (63%)	11 (37%)

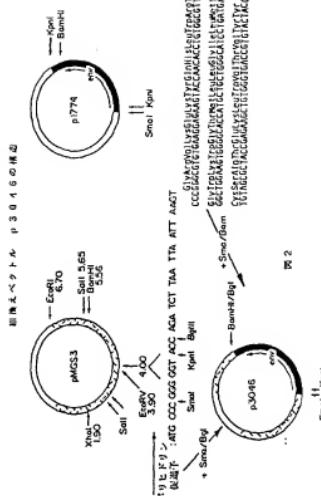
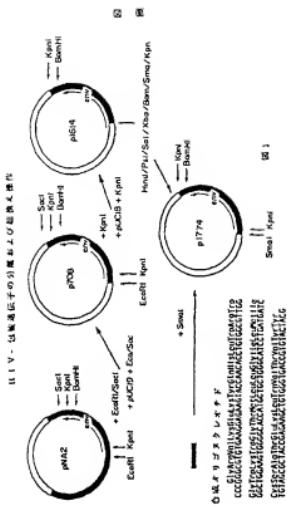
ワクチンの療法的利用は、急性HIV感染に対する治療法として19世紀にバスクールによって開発された。しかしながら、その感染に対する結果については、このような方法での研究は広範にはなれていない。A型およびB型肝炎感染に対する結果のように、グリールズ特異的の感染の事後の低感染率についての結果は複数あるものの、肯定もしくは僅量のウイルス感染に対しては、免疫療法の有効性により人間に対する実験だけの研究は無かった。

本実験では、感染後免疫活性化によりワクチン特異的免疫対応を提供する、とりわけ、HIV型免疫者から導き出されたg p 150に対するワクチンにより、HIV型免疫者から導き出されたg p 150に対するワクチン特異的免疫対応および免疫活性を増加させた。

本研究では、自然感染と免疫後免疫化における特異的HIVエピトープに対する免疫活性の差異が質的および量的の双方から確定できた。このようにして、感染のワクチン免疫活性化免疫性についての正確な判明が、被験者の70%について系統的に記録された。再び、20名の被験者(19名はワクチン反応者、1名はワクチン無反応者)が被験者ヒト群に対する直接免疫が施された。ワクチンの間に関する血清交換(エピトープに4.1、2.54および3.42)は、1.1%の被験者に発生した。

さらには、このワクチンに対する免疫反応の変化は、エピトープ地区により特異づけられているように、特異的抗体反応の因果関係について見込みのある希望を提供し、自然感染からでは導き出されない免疫制御機序を特徴づける特別な機会

特表平6-501851(12)



Ac3046 gp160 コード配列の 両端に位置するDNAのヌクレオチド配列

TGCTGATATC ATGGAAATAA TTAAATCTT ACCATCTCG CAAATAATA
-100

AGTATTTAC TGTTTCGTA ACAGTTTGT ATTAAGAAA CCTATATA

ATG -----/3045/----- TATTTAATTAA GT ACC GAC TCT GCT GAA GAG

GAG GAA ATT CTC CTT GAA GTT TCC CTG GTG TTC AAA GTA AAG GAG
+2287

TTT GCA CCA GAC GCA CCT CTG TTC ACT GGT CCG GCG TAT TAA

2

卷之三

卷之三

242

-13-

持表平5-501851 (15)

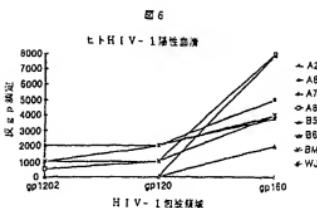
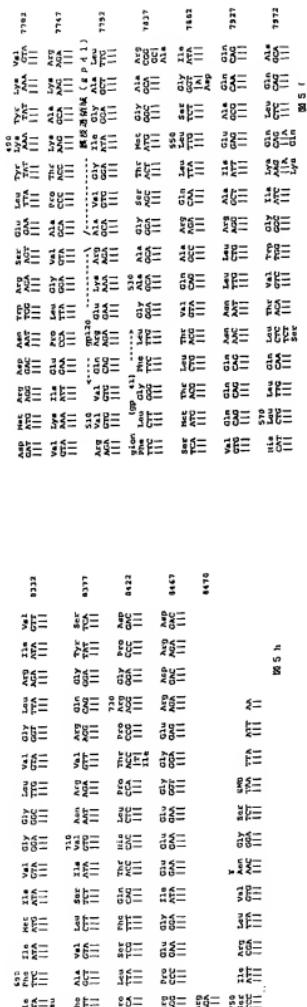
図4-1

アミノ酸	数	分子量	合計
GLY	53	75.1	3,988.3
GLU	42	147.1	6,031.1
ASP	25	133.1	3,337.5
VAL	44	117.1	5,036.1
ALA	37	69.1	3,295.7
ARG	39	174.1	6,782.1
SER	28	105.1	3,142.8
LYS	42	166.1	6,149.8
ASN	54	133.1	7,045.1
MET	17	147.1	2,523.4
ILE	57	131.1	7,478.1
THR	53	113.1	6,332.3
TYR	24	204.1	5,309.1
CYS	21	121.1	2,545.1
TRP	14	181.1	2,389.1
LEU	61	131.1	8,000.1
PHE	23	165.1	4,130.0
SEH	26	105.1	2,731.6
GLN	38	146.1	5,555.1
HIS	13	155.2	1,797.2
PRO	27	115.1	3,137.7
合計	751		40,000.0

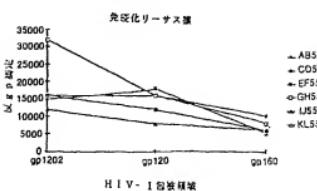
非離化ポリペプチドの合計算出分子量	44,824.6
非離化位置の合計数	:
2.8×2100 (オリゴ輪当たり分子量)	
g.p.15.0 の合計算出モル分子量	= 44,824.4 + 58800
	= 143,624.4

| 5.6 | | 5.7 | | 5.8 | | 5.9 | | 5.10 | | 5.11 | | 5.12 | | 5.13 | | 5.14 | | 5.15 | | 5.16 | | 5.17 | | 5.18 | | 5.19 | | 5.20 | | 5.21 | | 5.22 | | 5.23 | | 5.24 | | 5.25 | | 5.26 | | 5.27 | | 5.28 | | 5.29 | | 5.30 | | 5.31 | | 5.32 | | 5.33 | | 5.34 | | 5.35 | | 5.36 | | 5.37 | | 5.38 | | 5.39 | | 5.40 | | 5.41 | | 5.42 | | 5.43 | | 5.44 | | 5.45 | | 5.46 | | 5.47 | | 5.48 | | 5.49 | | 5.50 | | 5.51 | | 5.52 | | 5.53 | | 5.54 | | 5.55 | | 5.56 | | 5.57 | | 5.58 | | 5.59 | | 5.60 | | 5.61 | | 5.62 | | 5.63 | | 5.64 | | 5.65 | | 5.66 | | 5.67 | | 5.68 | | 5.69 | | 5.70 | | 5.71 | | 5.72 | | 5.73 | | 5.74 | | 5.75 | | 5.76 | | 5.77 | | 5.78 | | 5.79 | | 5.80 | | 5.81 | | 5.82 | | 5.83 | | 5.84 | | 5.85 | | 5.86 | | 5.87 | | 5.88 | | 5.89 | | 5.90 | | 5.91 | | 5.92 | | 5.93 | | 5.94 | | 5.95 | | 5.96 | | 5.97 | | 5.98 | | 5.99 | | 5.100 | | 5.101 | | 5.102 | | 5.103 | | 5.104 | | 5.105 | | 5.106 | | 5.107 | | 5.108 | | 5.109 | | 5.110 | | 5.111 | | 5.112 | | 5.113 | | 5.114 | | 5.115 | | 5.116 | | 5.117 | | 5.118 | | 5.119 | | 5.120 | | 5.121 | | 5.122 | | 5.123 | | 5.124 | | 5.125 | | 5.126 | | 5.127 | | 5.128 | | 5.129 | | 5.130 | | 5.131 | | 5.132 | | 5.133 | | 5.134 | | 5.135 | | 5.136 | | 5.137 | | 5.138 | | 5.139 | | 5.140 | | 5.141 | | 5.142 | | 5.143 | | 5.144 | | 5.145 | | 5.146 | | 5.147 | | 5.148 | | 5.149 | | 5.150 | | 5.151 | | 5.152 | | 5.153 | | 5.154 | | 5.155 | | 5.156 | | 5.157 | | 5.158 | | 5.159 | | 5.160 | | 5.161 | | 5.162 | | 5.163 | | 5.164 | | 5.165 | | 5.166 | | 5.167 | | 5.168 | | 5.169 | | 5.170 | | 5.171 | | 5.172 | | 5.173 | | 5.174 | | 5.175 | | 5.176 | | 5.177 | | 5.178 | | 5.179 | | 5.180 | | 5.181 | | 5.182 | | 5.183 | | 5.184 | | 5.185 | | 5.186 | | 5.187 | | 5.188 | | 5.189 | | 5.190 | | 5.191 | | 5.192 | | 5.193 | | 5.194 | | 5.195 | | 5.196 | | 5.197 | | 5.198 | | 5.199 | | 5.200 | | 5.201 | | 5.202 | | 5.203 | | 5.204 | | 5.205 | | 5.206 | | 5.207 | | 5.208 | | 5.209 | | 5.210 | | 5.211 | | 5.212 | | 5.213 | | 5.214 | | 5.215 | | 5.216 | | 5.217 | | 5.218 | | 5.219 | | 5.220 | | 5.221 | | 5.222 | | 5.223 | | 5.224 | | 5.225 | | 5.226 | | 5.227 | | 5.228 | | 5.229 | | 5.230 | | 5.231 | | 5.232 | | 5.233 | | 5.234 | | 5.235 | | 5.236 | | 5.237 | | 5.238 | | 5.239 | | 5.240 | | 5.241 | | 5.242 | | 5.243 | | 5.244 | | 5.245 | | 5.246 | | 5.247 | | 5.248 | | 5.249 | | 5.250 | | 5.251 | | 5.252 | | 5.253 | | 5.254 | | 5.255 | | 5.256 | | 5.257 | | 5.258 | | 5.259 | | 5.260 | | 5.261 | | 5.262 | | 5.263 | | 5.264 | | 5.265 | | 5.266 | | 5.267 | | 5.268 | | 5.269 | | 5.270 | | 5.271 | | 5.272 | | 5.273 | | 5.274 | | 5.275 | | 5.276 | | 5.277 | | 5.278 | | 5.279 | | 5.280 | | 5.281 | | 5.282 | | 5.283 | | 5.284 | | 5.285 | | 5.286 | | 5.287 | | 5.288 | | 5.289 | | 5.290 | | 5.291 | | 5.292 | | 5.293 | | 5.294 | | 5.295 | | 5.296 | | 5.297 | | 5.298 | | 5.299 | | 5.300 | | 5.301 | | 5.302 | | 5.303 | | 5.304 | | 5.305 | | 5.306 | | 5.307 | | 5.308 | | 5.309 | | 5.310 | | 5.311 | | 5.312 | | 5.313 | | 5.314 | | 5.315 | | 5.316 | | 5.317 | | 5.318 | | 5.319 | | 5.320 | | 5.321 | | 5.322 | | 5.323 | | 5.324 | | 5.325 | | 5.326 | | 5.327 | | 5.328 | | 5.329 | | 5.330 | | 5.331 | | 5.332 | | 5.333 | | 5.334 | | 5.335 | | 5.336 | | 5.337 | | 5.338 | | 5.339 | | 5.340 | | 5.341 | | 5.342 | | 5.343 | | 5.344 | | 5.345 | | 5.346 | | 5.347 | | 5.348 | | 5.349 | | 5.350 | | 5.351 | | 5.352 | | 5.353 | | 5.354 | | 5.355 | | 5.356 | | 5.357 | | 5.358 | | 5.359 | | 5.360 | | 5.361 | | 5.362 | | 5.363 | | 5.364 | | 5.365 | | 5.366 | | 5.367 | | 5.368 | | 5.369 | | 5.370 | | 5.371 | | 5.372 | | 5.373 | | 5.374 | | 5.375 | | 5.376 | | 5.377 | | 5.378 | | 5.379 | | 5.380 | | 5.381 | | 5.382 | | 5.383 | | 5.384 | | 5.385 | | 5.386 | | 5.387 | | 5.388 | | 5.389 | | 5.390 | | 5.391 | | 5.392 | | 5.393 | | 5.394 | | 5.395 | | 5.396 | | 5.397 | | 5.398 | | 5.399 | | 5.400 | | 5.401 | | 5.402 | | 5.403 | | 5.404 | | 5.405 | | 5.406 | | 5.407 | | 5.408 | | 5.409 | | 5.410 | | 5.411 | | 5.412 | | 5.413 | | 5.414 | | 5.415 | | 5.416 | | 5.417 | | 5.418 | | 5.419 | | 5.420 | | 5.421 | | 5.422 | | 5.423 | | 5.424 | | 5.425 | | 5.426 | | 5.427 | | 5.428 | | 5.429 | | 5.430 | | 5.431 | | 5.432 | | 5.433 | | 5.434 | | 5.435 | | 5.436 | | 5.437 | | 5.438 | | 5.439 | | 5.440 | | 5.441 | | 5.442 | | 5.443 | | 5.444 | | 5.445 | | 5.446 | | 5.447 | | 5.448 | | 5.449 | | 5.450 | | 5.451 | | 5.452 | | 5.453 | | 5.454 | | 5.455 | | 5.456 | | 5.457 | | 5.458 | | 5.459 | | 5.460 | | 5.461 | | 5.462 | | 5.463 | | 5.464 | | 5.465 | | 5.466 | | 5.467 | | 5.468 | | 5.469 | | 5.470 | | 5.471 | | 5.472 | | 5.473 | | 5.474 | | 5.475 | | 5.476 | | 5.477 | | 5.478 | | 5.479 | | 5.480 | | 5.481 | | 5.482 | | 5.483 | | 5.484 | | 5.485 | | 5.486 | | 5.487 | | 5.488 | | 5.489 | | 5.490 | | 5.491 | | 5.492 | | 5.493 | | 5.494 | | 5.495 | | 5.496 | | 5.497 | | 5.498 | | 5.499 | | 5.500 | | 5.501 | | 5.502 | | 5.503 | | 5.504 | | 5.505 | | 5.506 | | 5.507 | | 5.508 | | 5.509 | | 5.510 | | 5.511 | | 5.512 | | 5.513 | | 5.514 | | 5.515 | | 5.516 | | 5.517 | | 5.518 | | 5.519 | | 5.520 | | 5.521 | | 5.522 | | 5.523 | | 5.524 | | 5.525 | | 5.526 | | 5.527 | | 5.528 | | 5.529 | | 5.530 | | 5.531 | | 5.532 | | 5.533 | | 5.534 | | 5.535 | | 5.536 | | 5.537 | | 5.538 | | 5.539 | | 5.540 | | 5.541 | | 5.542 | | 5.543 | | 5.544 | | 5.545 | | 5.546 | | 5.547 | | 5.548 | | 5.549 | | 5.550 | | 5.551 | | 5.552 | | 5.553 | | 5.554 | | 5.555 | | 5.556 | | 5.557 | | 5.558 | | 5.559 | | 5.560 | | 5.561 | | 5.562 | | 5.563 | | 5.564 | | 5.565 | | 5.566 | | 5.567 | | 5.568 | | 5.569 | | 5.570 | | 5.571 | | 5.572 | | 5.573 | | 5.574 | | 5.575 | | 5.576 | | 5.577 | | 5.578 | | 5.579 | | 5.580 | | 5.581 | | 5.582 | | 5.583 | | 5.584 | | 5.585 | | 5.586 | | 5.587 | | 5.588 | | 5.589 | | 5.590 | | 5.591 | | 5.592 | | 5.593 | | 5.594 | | 5.595 | | 5.596 | | 5.597 | | 5.598 | | 5.599 | | 5.600 | | 5.601 | | 5.602 | | 5.603 | | 5.604 | | 5.605 | | 5.606 | | 5.607 | | 5.608 | | 5.609 | | 5.610 | | 5.611 | | 5.612 | | 5.613 | | 5.614 | | 5.615 | | 5.616 | | 5.617 | | 5.618 | | 5.619 | | 5.620 | | 5.621 | | 5.622 | | 5.623 | | 5.624 | | 5.625 | | 5.626 | | 5.627 | | 5.628 | | 5.629 | | 5.630 | | 5.631 | | 5.632 | | 5.633 | | 5.634 | | 5.635 | | 5.636 | | 5.637 | | 5.638 | | 5.639 | | 5.640 | | 5.641 | | 5.642 | | 5.643 | | 5.644 | | 5.645 | | 5.646 | | 5.647 | | 5.648 | | 5.649 | | 5.650 | | 5.651 | | 5.652 | | 5.653 | | 5.654 | | 5.655 | | 5.656 | | 5.657 | | 5.658 | | 5.659 | | 5.660 | | 5.661 | | 5.662 | | 5.663 | | 5.664 | | 5.665 | | 5.666 | | 5.667 | | 5.668 | | 5.669 | | 5.670 | | 5.671 | | 5.672 | | 5.673 | | 5.674 | | 5.675 | | 5.676 | | 5.677 | | 5.678 | | 5.679 | | 5.680 | | 5.681 | | 5.682 | | 5.683 | | 5.684 | | 5.685 | | 5.686 | | 5.687 | | 5.688 | | 5.689 | | 5.690 | | 5.691 | | 5.692 | | 5.693 | | 5.694 | | 5.695 | | 5.696 | | 5.697 | | 5.698 | | 5.699 | | 5.700 | | 5.701 | | 5.702 | | 5.703 | | 5.704 | | 5.705 | | 5.706 | | 5.707 | | 5.708 | | 5.709 | | 5.710 | | 5.711 | | 5.712 | | 5.713 | | 5.714 | | 5.715 | | 5.716 | | 5.717 | | 5.718 | | 5.719 | | 5.720 | | 5.721 | | 5.722 | | 5.723 | | 5.724 | | 5.725 | | 5.726 | | 5.727 | | 5.728 | | 5.729 | | 5.730 | | 5.731 | | 5.732 | | 5.733 | | 5.734 | | 5.735 | | 5.736 | | 5.737 | | 5.738 | | 5.739 | | 5.740 | | 5.741 | | 5.742 | | 5.743 | | 5.744 | | 5.745 | | 5.746 | | 5.747 | | 5.748 | | 5.749 | | 5.750 | | 5.751 | | 5.752 | | 5.753 | | 5.754 | | 5.755 | | 5.756 | | 5.757 | | 5.758 | | 5.759 | | 5.760 | | 5.761 | | 5.762 | | 5.763 | | 5.764 | | 5.765 | | 5.766 | | 5.767 | | 5.768 | | 5.769 | | 5.770 | | 5.771 | | 5.772 | | 5.773 | | 5.774 | | 5.775 | | 5.776 | | 5.777 | | 5.778 | | 5.779 | | 5.780 | | 5.781 | | 5.782 | | 5.783 | | 5.784 | | 5.785 | | 5.786 | | 5.787 | | 5.788 | | 5.789 | | 5.790 | | 5.791 | | 5.792 | | 5.793 | | 5.794 | | 5.795 | | 5.796 | | 5.797 | | 5.798 | | 5.799 | | 5.800 | | 5.801 | | 5.802 | | 5.803 | | 5.804 | | 5.805 | | 5.806 | | 5.807 | | 5.808 | | 5.809 | | 5.810 | | 5.811 | | 5.812 | | 5.813 | | 5.814 | | 5.815 | | 5.816 | | 5.817 | | 5.818 | | 5.819 | | 5.820 | | 5.821 | | 5.822 | | 5.823 | | 5.824 | | 5.825 | | 5.826 | | 5.827 | | 5.828 | | 5.829 | | 5.830 | | 5.831 | | 5.832 | | 5.833 | | 5.834 | | 5.835 | | 5.836 | | 5.837 | | 5.838 | | 5.839 | | 5.840 | | 5.841 | | 5.842 | | 5.843 | | 5.844 | | 5.845 | | 5.846 | | 5.847 | | 5.848 | | 5.849 | | 5.850 | | 5.851 | | 5.852 | | 5.853 | | 5.854 | | 5.855 | | 5.856 | | 5.857 | | 5.858 | | 5.859 | | 5.860 | | 5.861 | | 5.862 | | 5.863 | | 5.864 | | 5.865 | | 5.866 | | 5.867 | | 5.868 | | 5.869 | | 5.870 | | 5.871 | | 5.872 | | 5.873 | | 5.874 | | 5.875 | | 5.876 | | 5.877 | | 5.878 | | 5.879 | | 5.880 | | 5.881 | | 5.882 | | 5.883 | | 5.884 | | 5.885 | | 5.886 | | 5.887 | | 5.888 | | 5.889 | | 5.890 | | 5.891 | | 5.892 | | 5.893 | | 5.894 | | 5.895 | | 5.896 | | 5.897 | | 5.898 | | 5.899 | | 5.900 | | 5.901 | | 5.902 | | 5.903 | | 5.904 | | 5.905 | | 5.906 | | 5.907 | | 5.908 | | 5.909 | | 5.910 | | 5.911 | | 5.912 | | 5.913 | | 5.914 | | 5.915 | | 5.916 | | 5.917 | | 5.918 | | 5.919 | | 5.920 | | 5.921 | | 5.922 | | 5.923 | | 5.924 | | 5.925 | | 5.926 | | 5.927 | | 5.928 | | 5.929 | | 5.930 | | 5.931 | | 5.932 | | 5.933 | | 5.934 | | 5.935 | | 5.936 | | 5.937 | | 5.938 | | 5.939 | | 5.940 | | 5.941 | | 5.942 | | 5.943 | | 5.944 | | 5.945 | | 5.946 | | 5.947 | | 5.948 | | 5.949 | | 5.950 | | 5.951 | | 5.952 | | 5.953 | | 5.954 | | 5.955 | | 5.956 | | 5.957 | | 5.958 | | 5.959 | |
<th
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |

特表平6-501851 (19)



26



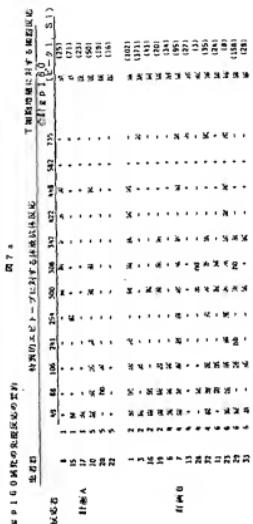
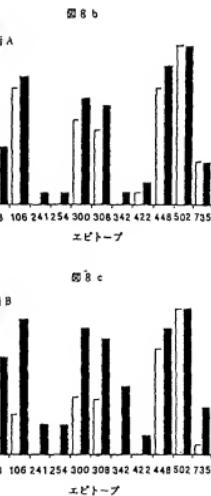
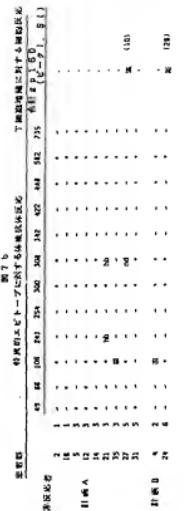
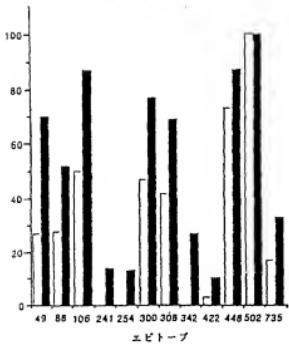
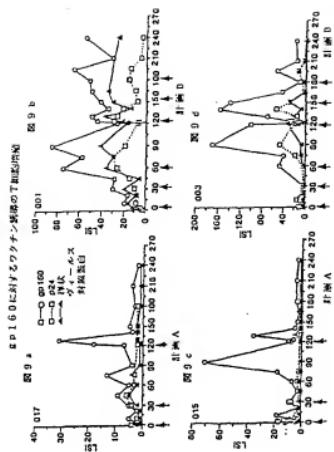
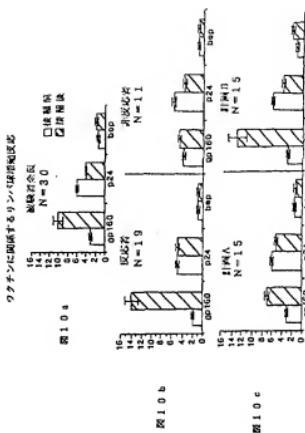
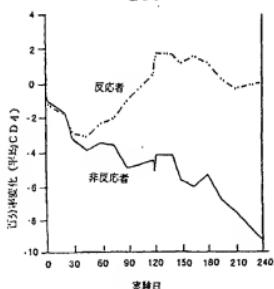


図8 a
特異的HIV-1 Gagエピトープに対する
ワクチン誘導の抗体





1 1



国際調査報告書	
Part 1: Observation when other survey drivers have been used (Continuation of page 1 of this sheet)	
<p>The last reported survey has been carried out using a method of observation under Part 1 of the following section:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Count</p> <p>Count the number of individual units which are present in the holding, using:</p> <p>Reason: Although classes 1 to 32 are directed as a method of assessment of the number of the holder body which are present but verified and used as the alleged number of the holder body.</p> <p><input type="checkbox"/> Count the</p> <p>Count the number of individual units which are present in the holding, using:</p> <p>Reason: The number of individual units which are present but verified and used as the alleged number of the holder body.</p> <p><input type="checkbox"/> Count the</p> <p>Count the number of individual units which are present in the holding, using:</p> <p>Reason: The number of individual units which are present but verified and used as the alleged number of the holder body.</p>	
<p>Part 2: Observation when a method of recording is being used (Continuation of page 2 of this sheet)</p> <p>The last reported survey has been carried out using a method of recording, in which:</p> <p><input type="checkbox"/> All relevant information about the survey period to the question, the information which is relevant to the survey period.</p> <p><input type="checkbox"/> All relevant information about the survey period after applying an adjustment to the data, but not prior to applying an adjustment.</p> <p><input type="checkbox"/> All relevant information about the survey period after applying an adjustment to the data, but not prior to applying an adjustment.</p> <p><input type="checkbox"/> All relevant information about the survey period after applying an adjustment to the question, the information which is relevant to the survey period.</p> <p><input type="checkbox"/> All relevant information about the survey period after applying an adjustment to the question, the information which is relevant to the survey period.</p> <p><input type="checkbox"/> A relevant adjustment from the survey period to the question. Otherwise, the information which is relevant to the survey period is relevant to the question, the information which is relevant to the survey period.</p>	
Report as PDF	<input type="checkbox"/> The relevant record has been submitted to the relevant person. <input type="checkbox"/> The relevant record has been submitted to the relevant person.

Patent Number and/or Serial Number	Patent Date	Patent Name (Last, First)	Patent Date (Last, First)
EP-A-0327780	09-08-89 JP-A-1	2315781 2205793	03-08-89 11-10-90

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ¹	类别記号	厅内整理番号
C 12 N	5/10	
C 12 P	21/02	C 8214-4B
//(C 12 N	5/10	
C 12 R	1:91)	
(C 12 P	21/02	
C 12 R	1:91)	

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE,
DK, ES, FR, GB, GR, IT, LU, MC, NL, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, SN, TD, TG), AU, BB, BG, BR, CA, CS, FI, HU, JP, KP, KR, LK, MG, MN, MW, NO, PL, R, O, RU, SD

(72)発明者 ポルポヴィッツ フランクリン
アメリカ合衆国 コネチカット州 06511
ニューヘブン ナンバー18イー ヨーク
ストリート 123